

**PENGARUH PENAMBAHAN ENZIM TANASE TERHADAP SIFAT KIMIA SIRUP BUAH SEMU JAMBU
METE (*ANACARDIUM OCCIDENTALE* LINN)**

Yunita Arian Sani Anwar

Program Studi Pendidikan Kimia FKIP Universitas Mataram

Email: rian_bik@yahoo.com

Abstrak : Sebelumnya telah dihasilkan enzim tanase dari *Aspergillus niger* menggunakan media padat. Pada penelitian ini, enzim tanase yang dihasilkan diaplikasikan pada sirup buah jambu mete. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim tanase terhadap sifat sirup buah jambu. Konsentrasi enzim yang digunakan divariasi 0%; 0,02%; 0,04%; 0,06%; 0,08% dan 0,1%. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan sifat kimia sirup buah jambu mete yang diberi perlakuan dengan suhu tinggi (100°C). Hasil penelitian menunjukkan bahwa penambahan enzim tanase sebesar 0,1% memberikan hasil yang paling baik untuk menurunkan kandungan tannin jika dibandingkan dengan penggunaan suhu tinggi. Kadar glukosa mengalami peningkatan yang signifikan untuk sirup yang diberi perlakuan dengan suhu tinggi. Hasil analisis vitamin C, protein dan pH tidak mengalami perubahan pada sirup buah jambu mete yang diberi perlakuan dengan enzim tanase. Penggunaan suhu tinggi menyebabkan penurunan kadar vitamin C dan protein secara signifikan.

Kata kunci: Buah Semu Jambu Mete, Enzim Tanase, Tanin

Abstract : We previously produced tannase from *Aspergillus niger* using solid state medium. In the present study the enzyme used cashew apple juice. The aim this research was to know effect of tannase on chemical parameters of cashew apple juice. The concentration of tannase used was 0%; 0.02%; 0.04%; 0.06%; 0.08% and 0.1% (v/v) and this result compared with high temperature treatment (100 °C). Cashew apple juice with tannase treatment resulted in reduced of tannin and increased of glucose and the best result was obtained at the concentration tannase 0,01% (v/v). Tannase treatment not affect ascorbic acid, pH, and protein but high temperature treatment can reduce ascorbic acid content and protein.

Keywords : cashew apple juice, tannase, tannin

1. PENDAHULUAN

Pemanfaatan jambu mete hingga saat ini masih terbatas pada bijinya yang diolah menjadi kacang mete. Buah jambu mete sendiri belum banyak dimanfaatkan bahkan tidak dimanfaatkan sama sekali. Setiap tahunnya limbah buah jambu mete menimbulkan permasalahan lingkungan yang cukup serius.

Penyebab utama buah jambu mete belum dimanfaatkan secara optimal karena tingginya kadar tanin sehingga menimbulkan rasa sepat jika dikonsumsi. Sirup buah jambu mete yang pernah diproduksi kurang menarik perhatian konsumen akibat rasa sepat yang ditimbulkan oleh kehadiran tanin. Padahal kandungan gizi buah jambu mete sangat bagus yaitu mengandung riboflavin (vitamin B2), asam askorbat (vitamin C) dan kalsium serta senyawa aktif yang diketahui dapat mencegah penyakit kanker. Kandungan vitamin C pada buah jambu mete cukup tinggi mencapai 180-250 mg per 100 gram bahan.

Penurunan kandungan tanin dapat dilakukan dengan penambahan enzim tanase. Enzim ini bekerja secara spesifik mendegradasi tanin membentuk asam galat

dan glukosa. Enzim ini biasanya digunakan secara luas pada industri makanan maupun obat-obatan. Dalam industri makanan, tanase digunakan pada produk teh instan, menjernihkan bir dan jus buah serta mengurangi efek antinutrisi tanin pada makanan ternak. Untuk industri obat-obatan, tanase berperan dalam produksi asam galat, yaitu senyawa yang digunakan untuk mensintesis propil galat dan trimetoprim secara kimia [1]. Masyarakat biasanya menggunakan suhu tinggi untuk menurunkan kandungan tannin sehingga berpotensi merusak nutrisi penting yang terdapat pada bahan makanan. Penelitian yang dilakukan Hamacher dkk [2] melaporkan bahwa spesies yang berasal dari genus *Aspergillus* dan *Penicillium* memiliki kemampuan paling baik untuk memproduksi enzim tanase. Purnama [3] juga membuktikan bahwa *Aspergillus niger* yang diisolasi dari kulit buah kakao mampu menurunkan kandungan tanin sebesar 79,28%.

Penelitian yang dilakukan oleh Anwar dkk [4] telah menghasilkan enzim tanase pada media padat. Namun aktivitas enzim yang dihasilkan masih rendah. Salah satu faktor yang menyebabkan rendahnya aktivitas enzim

adalah komposisi media yang kurang tepat. Penelitian Anwar dan Burhanuddin [5] telah mampu menghasilkan tanase dengan aktivitas yang lebih tinggi dibandingkan penelitian sebelumnya. Hanya saja, aplikasi enzim ini untuk menurunkan kandungan tanin belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan enzim tanase terhadap sifat kimia sirup buah semu jambu mete.

2. METODE PENELITIAN

Bahan. Bahan-bahan yang diperlukan meliputi kapang *Aspergillus niger* yang diisolasi dari kulit buah kakao, Tween 80 (Merck), NaNO_3 , KCl, $\text{MgSO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$, asam tanat (Sigma), tepung gandum, glukosa, NaOH, HCl, Na-sitrat, asam sitrat, etanol 95% (Merck), Coomassie Brilliant Blue G 250 (Merck), H_3PO_4 85% (Merck), bovine serum albumin (Merck), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Kanto), EDTA, Na_2CO_3 , buah semu jambu mete, KI, I_2 , amilum 1%, besi (III) ammonium disulfat, kalium besi (III) sianida, anthrone (9,10-dihidro-9-oxanthracene), H_2SO_4 pekat, glukosa.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah pipet volumetrik, mikropipet, inkubator, Shaker bath, magnetik stirer, Sentrifuge dingin (Beckman J2-21), Water bath, spektrofotometer, selofan (Sigma), autoklaf, pH meter, neraca analitik, vortex, corong Buncher, vakum, laminar, Erlenmeyer, jarum ose, kertas Whatman no.1 (Advantec) dan peralatan gelas yang biasa digunakan dalam laboratorium.

Metode. Produksi Enzim Tanase. Prosedur untuk produksi tanase mengacu pada metode Sanchez [6] dan Anwar dan Burhanuddin [5]. Sebanyak 5 gram tepung gandum dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 125 ml dan dibasahi dengan 10 ml medium Czapeck yang mengandung 3 g/L NaNO_3 ; 0,5 g/L KCl; 0,348 g/L $\text{MgSO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; 0,01 g/L $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 1,301 g/L $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ pada pH 5,5. Media selanjutnya disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Setelah itu, ke dalam media padat tersebut diinokulasikan 1 ml spora jamur dan diinkubasi pada suhu kamar selama 3 hari.

Isolasi Enzim Kasar. Isolasi enzim kasar dilakukan dengan cara mengekstrak media fermentasi dengan menambahkan 50 ml aquades steril yang mengandung 0,01 % Tween 80. Campuran tersebut dilarutkan dengan menggunakan magnetik stirrer. Enzim kasar (*crude enzyme*) selanjutnya dipisahkan dari media melalui sentrifugasi. Supernatan disaring dengan kertas Whatman no. 1 dan dimasukkan ke dalam botol.

Enzim kasar difraksinasi dengan amonium sulfat pada tingkat kejenuhan 70%. Perlakuan ini dilakukan pada kondisi suhu 4 °C selama 3 jam. Pemisahan dilakukan dengan sentrifugasi 7700 g selama 20 menit pada suhu yang sama, kemudian endapan yang diperoleh disuspensikan dalam bufer sitrat 50 mM pH 5,0. pemekatan enzim dilakukan dengan cara dialisis pada suhu 4 °C selama semalam dan bufernya dapat diganti beberapa kali sampai cairan diluar selofan tidak bereaksi dengan larutan Nessler.

Pembuatan Sirup. Pembuatan sirup jambu mete dilakukan dengan cara buah jambu mete diblender, kemudia diperas sehingga diperoleh sari buah jambu mete. Ke dalam filtrat

ditambahkan enzim tanase dengan konsentrasi 0; 0,02; 0,04; 0,06; dan 0,08% (v/v), didiamkan selama 1 jam pada suhu kamar. Filtrat dipanaskan selama 5 menit untuk inaktivasi enzim. Sebagai pembanding, filtrat jambu mete dipanaskan pada suhu 100°C selama 20 menit dan ditambahkan gelatin untuk mengendapkan tanin.

Pengujian Gula Pereduksi. Sebanyak 0,1% anthrone (9,10-dihidro-9-oxanthracene) ditimbang dan dimasukkan ke dalam labu takar 250 ml serta ditambah H_2SO_4 pekat (dibuat dalam kondisi fresh). Larutan standar dibuat dengan melarutkan 200 mg dalam 100 mL aquades. Sebanyak 10 mL larutan standar diencerkan hingga volume larutan 100 mL.

Sebanyak 1 ml larutan standar glukosa atau sirup buah jambu mete dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan 10 mL aquades dan 5 mL reagen anthrone, diamkan dalam waterbath (100°C) selama 12 menit. Dinginkan larutan pada air mengalir dan ukur absorbansinya pada $\lambda = 630 \text{ nm}$.

Penentuan Kadar Vitamin C. Sebanyak 10 mL sari buah ditambahkan 5 tetes amilum 1 % dan ditambahkan 10 mL aquades. Kemudian dititrasi dengan larutan 0,01 N standar yodium sampai timbul warna biru konstan. 1 mL 0,01 N Yodium = 0,88 mg asam askorbat

Penentuan Kadar Tanin [7]. Larutan baku asam tanat 25 ig/mL dipipet masing-masing 1,0 mL; 2,0 mL; 4,0 mL; 5,0 mL; dan 6,0 mL ke dalam labu ukur 25 mL. Masing-masing ditambah dengan 3,0 mL besi(III) amonium disulfat, diaduk selama 20 menit, ditambahkan 3 ml kalium besi (III) sianida, diaduk selama 20 menit kemudian ditambah aqua demineralisata hingga diperoleh seri larutan 1 ig/mL; 2 ig/mL; 4 ig/mL; 5 ig/mL; 6 ig/mL. Diukur serapan pada 720 nm.

Sebanyak 5 ml sirup buah jambu mete ditambah aqua demineralisata hingga volume 10 ml kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambah dengan 3,0 mL besi(III) amonium disulfat, diaduk selama 20 menit, ditambahkan 3 ml kalium besi (III) sianida, diaduk selama 20 menit. Tambahkan aquades hingga volume 25 mL dan serapannya diukur pada 720 nm.

Pengukuran Kadar Protein Sirup Buah Jambu Mete. Pembuatan kurva standar protein BSA dengan metode Bradford dilakukan dengan melarutkan 100 mg BSA (Bovine Serum Albumin) dalam 25 ml aquades. Larutan tersebut kemudian diencerkan dengan aquades sampai 100 ml. Setelah itu dibuat larutan standar protein dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 g.

Masing-masing larutan standar dengan konsentrasi yang berbeda tersebut dipipet sebanyak 0.1 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Untuk blanko larutan standar diganti dengan 0.1 ml aquades. Sebanyak 5 ml pereaksi Bradford kemudian ditambahkan ke dalam larutan protein dan blanko. Selanjutnya divortex dan setelah 2 menit absorbansinya diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 597 nm.

Campuran 0,1 ml sirup dan 5 ml pereaksi Bradford dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Setelah itu, campuran divortex dan setelah 2 menit diukur absorbansinya pada panjang gelombang 597 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya dikonversikan ke dalam kurva

standar BSA untuk mendapatkan konsentrasi protein sirup buah jambu mete.

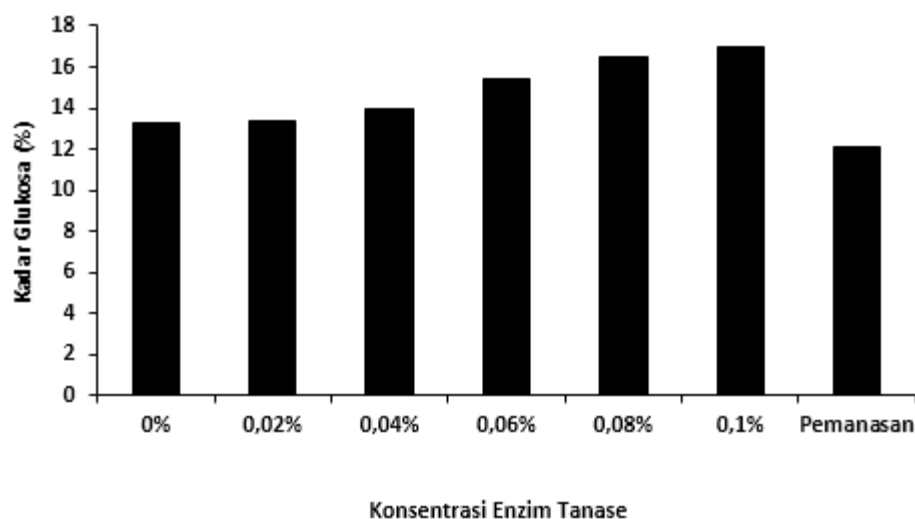
3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Produksi enzim tanase menggunakan fermentasi media padat sesuai dengan penelitian [5]. Aktivitas enzim tanase yang dihasilkan setelah melalui fraksinasi amonium sulfat adalah sebesar 18,33 U/mL. Jika dibandingkan dengan enzim kasar terjadi peningkatan aktivitas sebesar 8 kali.

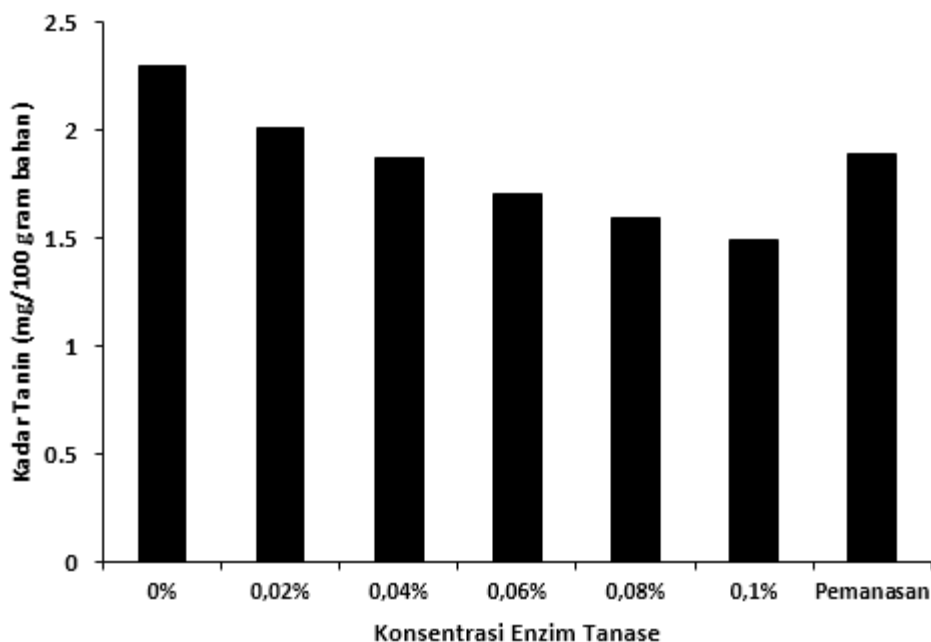
Sifat kimia sirup buah jambu mete menunjukkan beberapa perubahan sebelum dan sesudah diberikan enzim tanase. Sifat kimia yang dimaksud meliputi kadar vitamin C, glukosa, tanin, protein dan pH. Penambahan enzim tanase memberikan pengaruh yang nyata terhadap kadar glukosa dan tanin yang terdapat pada sirup buah jambu

mete. Kadar glukosa cenderung mengalami kenaikan untuk semua perlakuan dengan enzim tanase. Namun, penggunaan suhu tinggi menyebabkan penurunan kadar glukosa (Gambar 1). Hasil uji Duncan ($\alpha = 5\%$) menunjukkan penambahan enzim tanase sebesar 0,02% dan 0,04% (v/v) tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kenaikan kadar glukosa. Penambahan enzim sebesar 0,06% hingga 0,1% menunjukkan kenaikan yang signifikan dan kenaikan tertinggi ditunjukkan pada penambahan enzim sebesar 0,1%.

Kadar tanin pada sirup buah jambu mete mengalami penurunan yang signifikan setelah diberikan enzim tanase (Gambar 2). Penambahan enzim tanase sebesar 0,1% menunjukkan penurunan kadar tanin yang lebih baik yaitu 1,49 mg/100 gram bahan. Jika dibandingkan dengan kontrol, terjadi penurunan kandungan tanin sebesar 35%. Penggunaan suhu tinggi juga dapat



Gambar 1. Pengaruh penambahan enzim tanase terhadap kadar glukosa



Gambar 2. Pengaruh penambahan enzim tanase terhadap kadar tanin sirup buah jambu mete

menyebabkan berkurangnya kandungan tanin pada sirup buah jambu mete.

Berbeda dengan kadar glukosa dan tanin, hasil uji Duncan ($\alpha = 5\%$) menunjukkan penambahan enzim tanase pada sirup buah jambu mete sepertinya tidak mempengaruhi kadar protein, vitamin C dan pH (Tabel 1). Namun penggunaan suhu tinggi mempengaruhi ketiga sifat kimia sirup buah jambu mete. Jika dibandingkan dengan kontrol, penggunaan suhu tinggi menurunkan kandungan protein dan vitamin C sirup.

enzim tanase. Namun, penggunaan suhu tinggi menyebabkan penurunan kadar vitamin C dan protein. Seperti yang diungkapkan oleh deMan [12] penggunaan suhu tinggi dapat merusak vitamin C. Protein juga mudah mengalami denaturasi pada suhu tinggi yang dapat mengurangi kandungannya di dalam bahan makanan [13]. Penelitian ini menunjukkan bahwa penggunaan enzim tanase dapat mengurangi kandungan tanin tanpa merusak nutrisi penting seperti vitamin C yang terdapat pada sirup buah jambu mete.

Tabel 1. Pengaruh penambahan enzim tanase terhadap kadar protein, vitamin C dan pH sirup buah jambu mete

Perlakuan	Kadar protein (mg/100 g bahan)	Vitamin C (mg/100 g bahan)	pH
Enzim 0%	16,85 ^b	193,6 ^c	3,98 ^a
	16,79 ^b	170,1 ^b	3,81 ^a
Enzim 0,02%	16,81 ^b	161,3 ^b	3,87 ^a
	16,72 ^b	167,2 ^b	3,85 ^a
Enzim 0,04%	16,76 ^b	167,2 ^b	3,84 ^a
	17,05 ^b	167,2 ^b	3,79 ^a
Enzim 0,06%	14,01 ^a	132 ^a	3,89 ^a
Enzim 0,08%			
Enzim 0,1%			
Pemanasan			

Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang sama pada kolom yang sama berbeda tidak nyata sesuai uji Duncan pada taraf $\alpha 5\%$

Penurunan kandungan tanin pada sirup buah jambu mete disebabkan oleh reaksi hidrolisis enzim tanase. Enzim ini bekerja pada ikatan ester tanin terhidrolisis dan digunakan secara luas untuk menurunkan kandungan tanin [8]. Semakin besar konsentrasi enzim tanase yang digunakan, semakin besar penurunan kandungan tanin pada sirup buah jambu mete. Penggunaan suhu tinggi juga dapat menurunkan kandungan tanin. Suhu tinggi dapat mempercepat proses pemutusan ikatan ester pada tanin terhidrolisis [9].

Penambahan enzim tanase sebesar 0,06%; 0,08% dan 0,1% meningkatkan kadar glukosa pada sirup buah jambu mete. Hal ini disebabkan oleh kerja enzim tanase yang dapat menghidrolisis tanin terhidrolisis membentuk asam galat dan glukosa [9]. Selain itu, kandungan flavonol terglisosilasi yang terdapat pada sirup buah jambu mete mengandung ikatan ester yang dapat dihidrolisis oleh enzim tanase menghasilkan glukosa [10].

Penambahan enzim tanase pada sirup buah jambu mete tidak mempengaruhi kandungan vitamin C, protein dan pH. Penelitian Rout dan Banerjee [11] juga melaporkan tidak terjadi perubahan kadar vitamin C yang signifikan pada jus buah jambu mete yang diberi perlakuan dengan enzim tanase. Demikian pula halnya dengan kandungan protein jus buah jambu mete yang diberi perlakuan dengan

Jika dilihat dari tampilan, sirup buah jambu mete yang diberikan enzim terlihat lebih jernih dibandingkan kontrol. Penurunan kandungan tanin sebanding dengan warna jus buah yang lebih jernih. Talasila dkk [14] mengungkapkan bahwa tanin yang terdapat pada jus buah jambu mete dapat menimbulkan warna kegelapan pada jus buah dan penambahan metabisulfit dapat mengurangi warna coklat pada jus akibat dari menurunnya kadar tanin. Lebih lanjut, Belmares dkk [8] mengungkapkan bahwa enzim tanase dapat digunakan untuk menjernihkan beer dan sari buah.

4. SIMPULAN

Penambahan enzim tanase pada sirup buah jambu mete secara signifikan mampu menurunkan kandungan tannin dan meningkatkan kadar glukosa sirup. Konsentrasi enzim tanase sebesar 0,1% memberikan hasil yang lebih baik jika dilihat dari penurunan kadar tanin. Hasil analisis vitamin C, protein dan pH tidak mengalami perubahan pada sirup buah jambu mete yang diberi perlakuan dengan enzim tanase. Namun, perlakuan dengan suhu tinggi menyebabkan penurunan kadar vitamin C dan protein secara signifikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Pinto GAS, Leite S.G.F, Terzi S.C, Couri S. Selection of Tannase Producing *Aspergillus niger* Strains. 2001. *Brazilian J Microbiol.* 32:24-26.
- [2] Hamacher MS, Terzi SC, Couri S. 2001. Increase of tannase production in solid state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. diambil http://www.nrel.gov/biotechsymp/25/docs/abst_3-68.doc diakses 8 Juli 2005.
- [3] Purnama I.N, (2004), Kajian potensi isolat kapang pemecah ikatan tanin pada kulit buah kakao (*Thebroma cacao* L), Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- [4] Anwar Y.A.S, Hasim, Artika I.M, (2007), The Production of Tannin Acyl Hydrolase from *Aspergillus niger*, *Mikrobiologi Indonesia*, 1(2), pp. 91-94
- [5] Anwar Y.A.S dan Burhanuddin, 2012, Pengaruh Komposisi Media Terhadap Aktivitas dan Karakter Enzim Tanin Asil Hidrolase dari *Aspergillus niger*, *JIFI* 10(2): 87-92.
- [6] Sanchez HH. 2003. Optimization of *Aspergillus niger* tannase production using Taguchi methods. http://ift.confex.com/ift/2003/techprogram/paper_19929.htm diakses 8 Juli 2005.
- [7] Dermiaty Y, Hestiary R, Mira A.D, Rini A, (2008), Penentuan jumlah tanin total pada daun jati belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan daun sambang darah (*Excoecaria bicolor* Hassk) secara kolorimetri dengan pereaksi biru prusia, *Artocarpus*, 8(2), pp. 106-109.
- [8] Belmares R, Carlos J, Esquivel C, Harrera R R, Coronel A R, Aguilar C N, 2004, Microbial production of tannase: An enzyme with potential use in food industry, *J Food Sci Technol*, 37, 857-864
- [9] Hagerman A.E, (2002), Tannin Chemistry, <http://www.users.muohio.edu/hagermae/tanin.pdf> [9 Juli 2012]
- [10] Sousa de Brito E, Pessanha de Araujo C.P, Lin L-Z, Harnly J, (2007), Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium occidentale*) by LC-DAD-ESI/MS, *Food Chemistry*, 105, pp. 1112-1118
- [11] Rout S dan Banerjee R, (2006), Production of tannase under mSSF and its application in fruit juice debittering, *Indian Journal of Biotechnology*, 5, pp. 346-350
- [12] deMan J.M, (1999), *Principles of Food Chemistry*, edisi 3. Aspen Publisher, Inc, Maryland, pp. 366-372
- [13] Belitz H.D, W. Grosch, P. Schieberle, (2009), *Food Chemistry*, edisi 4. Springer-Verlag, Berlin, pp. 40-56
- [14] Talasila U, Vechalapu R.R, Shaik K.B, 2011, Preservation and Shelf Life of Cashew Apple Juice, *Internet Journal of Food Safety*, 13, pp. 275-280